

München, 1960.

Vergleichende Untersuchungen
zur Lebertoxizität des
blutzuckersenkenden
Phenyläthylbiguanid (DBI)

von

HELGA BOSS

AUS DER MEDIZINISCHEN POLIKLINIK DER UNIVERSITÄT MÜNCHEN

Direktor: Professor Dr. W. Seitz

VERGLEICHENDE UNTERSUCHUNGEN

ZUR LEBERTOXIZITÄT DES BLUTZUCKERSENKENDEN

PHENYLÄTHYLBIGUANID (DBI)

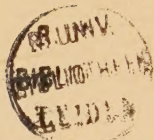
Inaugural - Dissertation
zur Erlangung der Doktorwürde in der gesamten Medizin
verfasst und einer Hohen Medizinischen Fakultät
Ludwig - Maximilians - Universität zu München

vorgelegt von

Helga Boss

aus Peking

München 1960



Bedruckt mit der Genehmigung der Medizinischen Fakultät
der Universität München

Referent: Professor Dr. W. Seitz

Dekan: Professor Dr. H. Schwiege

Tag der mündlichen Prüfung: 5. 4. 1960

INHALTSVERZEICHNIS

I. Einleitung	Seite 4
II. Material und Methodik	6
III. Ergebnisse	8
a.) klinische Beispiele	8
b.) tierexperimentelle Untersuchungen	10
1.) Körpergewicht	10
2.) Überlebenszeit	11
3.) elektrophoretische Untersuchungen	12
4.) histologische Untersuchungen	13
IV. Diskussion der Ergebnisse	17
V. Zusammenfassung	20
VI. Abbildungen	23
VII. Literaturverzeichnis	25
VIII. Lebenslauf	30

I. Einleitung

Durch die Einführung von blutzuckersenkenden Substanzen vom Typ der Sulfonylharnstoffe (1,4,5,8,14,21,39,58) wurde das Interesse erneut auf die orale Behandlung des Diabetes mellitus gelenkt. Nachdem schon Watanabe 1918 auf die blutzuckersenkenden Eigenschaften des Guanidins hingewiesen hatte (64), wurde im Jahre 1926 von Frank, Nothman und Wagner (19,20,61) über Therapieerfolge mit einem blutzuckersenkenden Guanidinderivat, dem Synthalin A, und später über ebensolche Erfolge mit einem anderen Guanidinabkömmling, dem Synthalin B, berichtet. Diese Substanzen konnten sich aber auf die Dauer in der Diabetestherapie nicht durchsetzen, da mehrere Autoren bei Patienten Leberschäden beobachtet haben wollten (2,9,10,11,17,18,48,52,59,65,) und andere Untersucher toxische Leberschäden im Tierexperiment feststellten (11,30,31,55). Mit Goldner (25) und Duncan (16) muß aber gesagt werden, daß das Auftreten von Leberschäden nach der Synthalinbehandlung beim Menschen äußerst selten beobachtet wurde, und dann auch noch in seinem Zusammenhang mit der Therapie recht fraglich erscheint.

Dennoch schien es nur allzu berechtigt zu sein, daß sich nach Einführung der Guanidinabkömmlinge vom Typ der sog. Biguanide (68) warnende Stimmen erhoben, die eine exakte Kontrolle der Leberfunktion nach Verabreichung der neuen Substanzen forderten.

Über klinische Erfolge mit dem blutzuckersenkenden Biguanid DBI (Phenyläthylbiguanid) berichteten zuerst die amerikanischen Arbeitsgruppen Krall, Pomeranze und Williams (33,45,66) nachdem von Ungar und Freedman die entsprechenden tierexperimentellen Untersuchungen hinsichtlich der blutzuckersenkenden Wirkung des DBI durchgeführt worden waren (62,63). Es muß jedoch festgestellt werden, daß bereits im Jahre 1929 von Hesse und Taubmann (29) sowie von Slotta und Tschesche (54) auf den im Tierexperiment beobachteten blutzuckersenkenden Effekt einiger Biguanidderivate hingewiesen worden ist, ohne jedoch aus ihren Ergebnissen kli-

nische Konsequenzen zu ziehen.

Die Aufgabe der vorliegenden Arbeit sollte nun sein, vergleichende Untersuchungen zur Lebertoxizität mit dem in den Vereinigten Staaten inzwischen als "Phenformin" in den Handel gebrachten DBI durchzuführen. Dabei wollten wir die mit den üblichen klinischen Leberfunktionsprüfungen an DBI-behandelten Patienten von uns und anderen Autoren (7,34,35,37,42,43,46,50, 53) gewonnenen Ergebnisse durch eine tierexperimentelle Prüfung besonderer Art ergänzen, die sich vorher bei der Testung der Lebertoxizität von Sulfonylharnstoffen bewährt hatte (32,57).

Zu diesem Zweck sollten jeweils 20 Ratten ein leberschädigendes Agens - Thioazetamid - (22,28,47,51) oder nur DBI allein oder Thioazetamid (TAA) zusammen mit DBI über Monate peroral zugeführt bekommen. Mit dieser Prüfungsanordnung sollte sich nicht nur feststellen lassen, wie sich gesunde Tiere bei langfristiger Zufuhr von DBI verhalten, sondern auch ermittelt werden, ob für die mit TAA lebergeschädigten Ratten die zusätzliche Verabreichung von DBI zu einer weiteren Verschlechterung des Leberbefundes führen würde. Wie in den vorangegangenen Untersuchungen von Georgii, Mehnert, Prosigel, Kastein und Stock (21) glaubten wir diese Frage beantworten zu können durch die Beurteilung der Überlebenszeit, des Körpergewichtes, des Verhaltens der laufend kontrollierten Serum-elektrophoresen der Tiere und durch die histologische Auswertung der Lebern der gestorbenen oder zu Versuchsende getöteten Tiere.

Damit sollte auch zu dem Problem Stellung genommen werden, inwieweit es in der Klinik gerechtfertigt ist, an Patienten mit Leberschäden Biguanidderivate zu verabreichen.

II. Material und Methodik

60 weiße, zur Hälfte männliche, zur Hälfte weibliche Ratten mit einem Durchschnittsgewicht von 212 g wurden zu Beginn des Versuches mit Ohrmarken gekennzeichnet und jedes Tier in einem Einzelkäfig untergebracht. Sodann wurden drei Gruppen zu je 20 Tieren, die sich hinsichtlich Geschlecht und Gewicht einander entsprachen, gebildet. Die Tiere zweier Gruppen erhielten Thioazetamid (TAA) in gleicher Dosierung, um einen Leberschaden zu erzielen. Eine dieser Gruppen erhielt noch zusätzlich Phenyläthylbiguanid (DBI)^{x)} in gleicher Menge wie die letzte dritte Gruppe, die nur DBI allein zugeführt bekam. (Einzelheiten siehe Dosierungsschema Tab. I).

Das Futter bestand aus eiweiß- und cholinarmer Nahrung. Die Tiere bekamen Weiß- oder Schwarzbrot, rohes Gemüse, Rüben oder Salat sowie Wasser ad libitum. Diese Mangelernährung sollte eine beschleunigte Entwicklung der zu erwartenden Hepatopathie fördern. Die Leberveränderungen sollten durch wiederholte Serum-Eiweißelektrophoresen beobachtet werden und wurden schließlich am histologischen Präparat der gestorbenen oder zu Versuchsende getöteten Tiere dargestellt.

Bei vorangegangenen Versuchen zeigte sich, daß die Tiere teilweise Futter, dem TAA zugesetzt worden war, verweigerten. Deswegen und auch wegen der sichereren und genaueren Verabfolgung wurden Thioazetamid und DBI durch eine Schlundsonde appliziert. Dazu wurde eine Knopfkanüle aus V2A Stahl von 1,3 mm Schaft und 2,0 mm Olivendurchmesser und einer Länge von 60,0 mm - auf eine 2 ccm Rekordspritze aufgesetzt - verwendet. TAA und DBI wurden in wässriger Lösung verabfolgt und die Konzentration der Einzeldosis stets so gehalten, daß TAA und DBI - gaben allein jeweils in 1 ccm durch die Sonde gegeben wurden.

x) Den Firmen, Chemie Grünenthal (Stolberg/Rhld.) und U.S. Vit. Corp. New York, bin ich für die Überlassung von Versuchsmengen zu Dank verpflichtet.

DBI und TAA als Einzeldosis jedoch in 2 ccm. Um eine ruhige und sichere Sondierung durchzuführen, wurden mehrere Tiere zugleich vor der Sondierung in einem Glasgefäß, das am Boden äthergetränkten Zellstoff enthielt, kurz narkotisiert. Dann wurden die Tiere mit dem Rücken auf ein Brett gelegt, auf dem zwischen 2 Nägeln ein Gummiring gespannt war. Dieser wurde hinter den oberen Schneidezähnen der Ratte eingehängt und der Kopf auf diese Weise fest auf dem Brett fixiert. Durch Zug am Schwanz wurde das Tier gestreckt, so daß die Sonde sich leicht bis zu ihrem Ansatz in den Ösophagus einführen ließ. Eine versehentliche Sondierung der Trachea ist am spürbaren Widerstand an der Bifurkation zu bemerken. Nach dem Aufwachen wurde die Ratte wieder in den Käfig zurückgesetzt und erhielt sofort Futter und Wasser.

Bei der Untersuchung der Serumeiweißkörper mit Hilfe der Elektrophorese wurde folgendermaßen vorgegangen: zur Gewinnung des Blutes wurde bei der narkotisierten Ratte ein Stück Schwanz kupiert, das Blut sofort in einer 17 cm langen, U-förmig gebogenen Kapillare aufgefangen, diese etikettiert und anschließend bei 2500 U/Min. zehn Minuten lang zentrifugiert. Die Schwanzwunde wurde lediglich kurz komprimiert; eine weitere Wundversorgung erübrigte sich, da die Blutung stets nach kurzer Zeit stand. Das benötigte Serum (0,0075 ccm) wurde direkt mit der zum Auftragen verwendeten Pipette aus einem abgesägten Schenkel der Kapillare entnommen. Die eigentliche Elektrophorese wurde nach der von Grassmann und Hannig angegebenen Methode (26,27) durchgeführt. Bei der Auswertung der Kurven wurde auf die Einzeichnung der Gauss'schen Dreiecke verzichtet, da bei der Elektrophorese der Ratte eine deutliche Talbildung zwischen den Eiweißfraktionen zum Teil fehlt. Statt dessen wurden Senkrechten auf die Abszisse durch den tiefsten Punkt des Kurventals gezogen, oder nach Vergleich mit dem Elektrophoresestreifen die Gerade durch das Schwärzungsminimum gelegt. Eine Abgrenzung der Alpha-1 und Alpha-2 Globuline wurde nicht versucht. Planimetrie und Umrechnung erfolgten in üblicher Weise.

Zur Ermittlung des genauen Körpergewichtes der Ratten, das 5 mal in etwa monatlichem Abstand geprüft wurde, mußten die Tiere in leicht narkotisiertem Zustand in kleine Pappschachteln mit Deckelverschluss gelegt werden, andernfalls wäre bei der Unruhe der Tiere eine exakte Messung unmöglich gewesen.

Alle Versuchstiere wurden seziiert. Zur histologischen Untersuchung wurden Leberstückchen entnommen und in 5 % Formalin sowie Carnoy-scher Lösung fixiert. Vom formalinfixierten Gewebe wurden über Nacht Fettfärbungen mit Sudan III angefertigt. Das nach Carnoy fixierte Gewebe wurde eingebettet und mit Hämalaun-Eosin sowie zur Glykogendarstellung mit Best-scher Carminlösung gefärbt. Die aufgezogenen Paraffinschnitte wurden mit 0,5 % Celloidinlösung überzogen und danach gefärbt.

III. E r g e b n i s s e

a.) klinische Beispiele

Zunächst sollen zwei kurzgefaßte Krankengeschichten wiedergegeben werden, die in typischer Weise das Verhalten von Biguanid-behandelten Patienten unter Dauertherapie zeigen. Es handelt sich dabei um lebergesunde Patienten, bei denen neben der Stoffwechselkontrolle wiederholte Leberfunktionsprüfungen durchgeführt wurden.

1.) Herr L.B. 49 Jahre. Seit 1952 Diabetes, zuletzt mit 80 E Ultra Lente früh und 8 E Semilente abends behandelt. Der Patient zeigte dennoch starke Stoffwechselschwankungen mit erheblichen Blutzuckerdifferenzen (Blutzucker im Tagesprofil zwischen 86 u. 298 mg%) und hypoglykämischen Reaktionen sowie einer starken Glukosurie (24 Std.Harnzuckerausscheidung zwischen 0 u. 56 g) Zur Stabilisierung der Stoffwechsellage werden bei langsamer Dosissteigerung stationär 200 mg DBI täglich

verabreicht. Daß sich gelingt es, innerhalb von 14 Tagen die Insulindosis auf täglich 1 Injektion von 36 E Lente, bei Wegfall der Abendspritze, zu erzielen und eine Stabilisierung der Stoffwechsellaage zu erreichen.

Leberfunktionsproben:

am:	22.1.58	20.3.	18.4.	2.7.	13.1.59	8.5.	21.9.
	vor Therapiebeginn	Während der Biguanid- Behandlung					
BKS	2/9	8/20	6/14	4/12	3/6	2/5	3/11
Bromthalein %	2,4	1,6	1,6	2,0		1,6	
Prothrombin%		100	100				
Bilirubin i.S.		0,34	0,31	0,28			
(mg%)							
Weltmann KB	VI	V	V	IV	VI		VI
Takata	Ø			Ø			Ø
Thymol	Ø	Ø	Ø	Ø			Ø
Cdm.SO ₄	Ø		Ø	Ø			Ø
Germanin	Ø			Ø			(+)2,03
Ges.Eiw.	6,77					6,44	6,35
Albumine						54,9	53,4
Alpha -1 Globuline						6,2	6,0
Alpha -2	"					7,9	10,5
Beta	"					12,7	12,7
Gamma	"					18,3	17,4

Kurze Epikrise: guter Erfolg der Biguanidbehandlung im Hinblick auf Insulineinsparung und Stoffwechselstabilisierung. Bemerkenswert ist, daß der Patient seit Beginn der DBI-Therapie keinen der früher so häufigen und ihn in der Berufsausübung erheblich behindernden hypoglykämischen Schocks erlitten hat. Dabei keine Nebenerscheinungen, keine Verschlechterung der Leberfunktionsproben.

2.) Frau M.B. 72 J. Diabetes seit 1954. Zuerst rein diätetische Behandlung, die aber 1958 sich nicht mehr als ausreichend erwies. Die 1958 beiderseits staroperierte, stark sehbehinderte Patientin ließ sich stationär mit 40 E Depot Insulin u. 32 E Alt-Insulin schlecht einstellen. Der Blutzucker schwankte zeitweilig zwischen 310-170 mg% bei einer 24 Std.Harnzuckerausscheidung bis 17 g. Diese unbefriedigenden Ergebnisse gaben Ende März 58 Veranlassung zur Neueinstellung mit anfangs 40 E Depot Insulin zusammen mit 200 mg DBI. Hiermit und wenig später sogar bei Wegfall der Insulinspritze unter 150 mg DBI allein ließ sich eine sehr gute Stoffwechselführung erreichen (BZ unter 172 mg%, HZ Ø).

Während des Jahres 1959 benötigte die Patientin nur mehr 50 mg DBI bei unverändert guter Stoffwechsellaage. Ein Auslassversuch bestätigte die Notwendigkeit der Biguanidverabreichung. Die Patientin vertrug zu Beginn der Therapie auch höhere Dosierungen DBI (200-150 mg) anstandslos und zeigte trotz Wegfall der Insulinspritze eine deutliche Stabilisierung der vorher mit hohen Dosen Insulin dennoch instabilen Stoffwechsellaage. Die Serumlabilitäten, Leberfunktionsproben, Elektrophoresen und das Serumbilirubin wiesen während eines Zeitraums von 2 Jahren keine Abweichungen von der Norm auf:

am:	27.3.58	5.4	19.6.	14.12.59
	vor Therapiebeginn	Während der Biguanidbehandlg.		
BKS in mm	22/51		12/30	23/54
Bromthalein %	2,4	3,6	5,0	
Bilirubin iS. (mg%)	0,28	0,34	0,54	
Weltmann KB	VI	VI	VII	
Takata	Ø	Ø	Ø	
Thymol	Ø	Ø	Ø	
Ges.Eiw.	6,93	6,77	6,77	
Albumin	49,7	52,9	60,4	48,2
Alpha-1 Globulin	5,6	5,1	4,2	6,0
Alpha-2	9,1	6,4	7,6	11,0
Beta	16,0	12,8	10,2	11,7
Gamma	19,6	22,8	17,6	23,2

b.) Tierexperimentelle Untersuchungen:

ad 1. Körpergewicht der Tiere:

Vor der Beurteilung des durchschnittlichen Körpergewichtes in den einzelnen Versuchsgruppen war eine statistische Korrektur erforderlich. Mit Hilfe der Methode der kleinsten Quadrate (15) sollte vermieden werden, daß durch das vorzeitige Sterben von Tieren mit einem niedrigen Körpergewicht der Eindruck entsteht, daß sich nach dem Tode eines solchen Tieres das durchschnittliche Körpergewicht der betreffenden Tiergruppe "bessert", d.h. erhöht ^{x)}; umgekehrt gab es auch Tiere, die trotz hohem Körpergewicht vorzeitig starben. Diese zufallsbedingten Änderungen lassen sich mit Hilfe der angegebenen Methode statistisch einwandfrei korrigieren.

^{x)} Herrn Dipl. Math. Klaus-Gerhardt Liebrich danke ich für seinen wertvollen Rat bei statistischen Fragen.

Die Beurteilung der Gewichtskurven (s. Abb. 1) lässt erkennen, daß erwartungsgemäß jene Tiergruppe, die zusätzlich zu DBI noch das Lebergift TAA erhalten hatte, am ungünstigsten abschneidet. Das Verhalten dieser Gruppe weicht allerdings nicht wesentlich von demjenigen ab, das die mit TAA allein behandelten Tiere zeigen. Beide Kurven verlaufen mit geringen Abweichungen, eben der oben erwähnten, ungünstigeren Entwicklung der DBI/TAA - Gruppe, annähernd parallel. Ganz anders verhalten sich die mit DBI allein behandelten Ratten. Am Ende des Versuches, d.h. nach 150 Tagen, wies diese mit DBI behandelte Gruppe ein cā. um 18 g höheres Durchschnittsgewicht als die mit TAA behandelten Tiere und ein um 20 g höheres korrigiertes Durchschnittsgewicht gegenüber den doppelt, nämlich mit DBI und TAA, belasteten Tieren auf.

ad 2. Überlebenszeit (Auswertung der Mortalität)

Es war zu untersuchen, ob zwischen der Mortalität der Tiere in den einzelnen Tiergruppen und den Zeitpunkten, zu denen die Todesfälle eintraten, ein Zusammenhang bestand und welche Unterschiede sich für diesen Zusammenhang zwischen den einzelnen Tiergruppen ergaben. Um einen Überblick über die auftretende Mortalität zu gewinnen, berechneten wir für jede Tiergruppe nach dem Tod eines einzelnen Tieres das prozentuale Verhältnis der insgesamt bis zu diesem Zeitpunkt gestorbenen Tiere zu der Zahl der Tiere zu Beginn der Versuche. Das Ergebnis wurde graphisch in der Abb. 2 wiedergegeben. Im Hinblick auf die im Allgemeinen bei Dosis-Mortalitätskurven vorliegenden Verhältnisse, haben wir für diese Darstellung eine halblogarithmische Einteilung gewählt. Auf der Ordinate kann der Prozentsatz der bis zu dem jeweiligen Tage verstorbenen Tiere abgelesen werden. Anschließend sei noch bemerkt, daß ein geringer Teil der Versuchstiere während der Narkose starb; diese Tiere berücksichtigten wir bei der Berechnung der Mortalität sowie bei der Aufstellung der Gewichtskurven nicht (d.h. wir zogen nur solche Tiere heran, die eindeutig an den Folgen der Medikation starben oder die ganze Versuchsdauer überlebten.)

Bei der Beurteilung der Überlebenszeit der 3 Gruppen zeigen sich ganz ähnliche Verhältnisse, wie sie für die Beurteilung des Körpergewichts der Tiere zutreffen. Der Verlauf der einzelnen Kurven deutet darauf hin, daß die Mortalität in der DT-Gruppe und in der T-Gruppe annähernd gleich ist. Aber auch hier erweist sich, daß die zusätzlich oder allein mit TAA behandelten Tiere ungünstiger abschneiden als die DBI-Gruppe. Der auch hinsichtlich der Überlebenszeit zu beobachtende geringfügige Unterschied zwischen der T- und der DT-Gruppe (zu Gunsten der T-Gruppe) ist ebenso wie der in gleicher Weise beobachtete Unterschied hinsichtlich der Körpergewichte nicht als signifikant anzusehen.

3. Elektrophoretische Untersuchungen (Verhalten der Serum-eiweißkörper). Gruppe DT=DBI/TAA; Gruppe T=TAA; Gruppe D=DBI;

Abnahme der mittleren Albuminwerte in Relativ % :

	I.Elpho.	II.Elpho.	III.Elpho.	Differenz der Rel.-%-Werte zwischen I.u.III. Elektrophorese:
Gruppe DT	20.2.58	6.5.58	1.7.58	7,5 Rel.-%
Gruppe T	36,3 Rel.-%	38,6 Rel.-%	28,5 Rel.-%	2,9 Rel.-%
Gruppe D	36,8 "	31,7 "	33,9 "	4,7 Rel.-%
	35,8 "	33,1 "	31,1 "	

Prozentuale Abnahme der Albuminwerte (Rel.-%) zwischen I.u.III.Elektroph.

für die Gruppe DT : 21,5 %

für die Gruppe T : 7.8 %

für die Gruppe D : 13,1 %

Die Beurteilung der Ergebnisse der Elektrophoresen führt zu keinem eindeutigen Resultaten, wie sie in den vorangegangenen Arbeiten möglich gewesen waren (Kastein H.; Stock G.; Lit. 2,57). Dieser Unterschied ist damit zu erklären, daß Kastein und Stock in ihrer TAA belasteten Gruppe wesentlich mehr TAA, vor allem zu Beginn, gegeben hatten, als es bei unseren Gruppen der Fall war. Dadurch hatten sie zwar eine deutliche Verschlechterung des Serum-eiweißbildes herbeiführen können, mußten aber auch die von uns bewußt vermiedene frühzeitige hohe Mortalität in Kauf nehmen. Trotz dieser Einschränk-

kungen zeigt sich auch bei unseren - wegen der starken Streuungen statistisch nicht auswertbarer Befunde - , daß in der zusätzlich mit TAA behandelten Gruppe ein wesentlich stärkeres Absinken der Albumine bis zu Versuchsende zu beobachten ist als in den beiden anderen Gruppen. Die Gruppe T scheint bei der langsam ansteigenden Dosiserhöhung sogar eine gewisse Gewöhnung an das Lebergift sowohl bei den Gewichten (s. Abb. 1) als auch bei den elektrophoretischen Ergebnissen zu zeigen, denn die schlechtesten Werte offenbarten sich hier in der Mitte der Versuchszeit; gegen Ende derselben findet sich also sogar eine geringe Verbesserung dieser Kriterien. Die Veränderungen in der Gruppe DT sind umso bedeutsamer, als hier - wie in den beiden anderen Gruppen - nur die Eiweißfraktionen der bis zu Versuchsende überlebenden und beurteilbaren Tiere berechnet wurden, nicht aber jene Ratten, die in dieser Gruppe wegen ihres massiven Leberschadens vorzeitig starben und gerade wegen ihres Leberschadens eine besonders signifikante Serum-eiweißverschiebung gezeigt hätten. Außerdem ist zu bemerken, daß die Elektrophorese sowohl in der Humanpathologie als auch besonders bei der Ratte nur als eine verhältnismäßig grobe Methode zur Beurteilung von Leberschäden - im Vergleich zur histologischen Untersuchung - anzusehen ist.

ad 4. Histologische Untersuchung

a.) Versuchsgruppe mit DBI-Belastung: An der Leber von 18 Tieren fanden ~~fanden~~ sich bei der H.E.-Färbung keine bemerkenswerten Veränderungen. Bei Fettfärbung zeigte sich in vielen Fällen eine fein-mitteltropfige Parenchymzellverfettung. Im Vergleich mit unbehandelten, gleichartigen Kontrolltieren ergibt sich kein Unterschied. Glykogeneinlagerungen finden sich bei etwa der Hälfte der Tiere. Die Glykogenschollen liegen meist perinucleär im Cytoplasma der Leberzellen und zwar in der Läppchenperipherie stärker als im Zentrum.

b.) Versuchsgruppe mit DBI und Thioacetamid-Belastung: In dieser Versuchsgruppe muß zwischen 11 spontan verendeten und 7 nach Versuchsende getöteten Tieren unterschieden werden.

Nach 4 Wochen finden sich schwere Veränderungen an den Parenchymzellen in Form einer Kernschwellung, Nukleolenvergrößerung und vielen doppelkernigen Leberzellen. Dieses unruhige Bild wird durch entzündliche Veränderungen in den perilobulären Leberabschnitten verstärkt. Es kommt dabei zu entzündlichen, ödematösen Verbreiterungen der Glissonschen Felder und der interlobulären Gewebsspalten. Weiter sind auch die peripheren Leberparenchymzellen in diese Veränderungen einbezogen. Sie zeigen eine Dissoziation der Bälkchenstruktur und stellenweise Nekrosen von Leberzellen. Der Ersatz dieser durch die perilobuläre Entzündung und Parenchymzellnekrosen durch straffes, kollagenfaseriges Bindegewebe führt schließlich zu einer entzündlichen Narbenleber. Dabei fehlen die regeneratorschen Sprossungen von Gallengängen weitgehend und in jedem Schnittpräparat finden sich nur 1 - 2 Gallengangsregenerate.

Bei diesen Narbenlebern finden sich kaum je Fetteinlagerungen in den Parenchymzellen. In den wenigen Fällen handelt es sich um eine diffuse feintropfige Verfettung, teilweise auch der Sternzellen der Leber.

Der Glykogengehalt der Leber ist unterschiedlich. Bei solchen Tieren, die während der Belastung mit TAA und DBI gestorben sind, ist die Leber oft weitgehend glykogenleer; In manchen Fällen zeigt sich aber auch ein der Norm entsprechender Glykogengehalt der Leberzellen. Jedenfalls besteht kein Zusammenhang zwischen den entzündlichen Leberveränderungen und dem Glykogengehalt der Leberzellen. Insbesondere bei den 7 Tieren, welche nach Abschluss des Versuchs getötet wurden und die alle eine zirrroseähnliche Narbenleber zeigten, fanden sich sehr reichlich Glykogeneinlagerungen. Bei der Best'schen Carminfärbung lag es in dunkelroten Schollen oder papierschnitzelförmigen Einlagerungen im Cytoplasma. Dabei fiel auf, daß die azinoperipheren Parenchymzellen in der Nähe der neugebildeten Bindegewebsstränge wesentlich glykogenärmer als die zentralen sind.

Insgesamt finden sich in dieser Versuchsgruppe 13 Fälle einer zirrroseähnlichen Narbenleber. Die erste wurde nach 74 Versuchstagen beobachtet, vom 83. Versuchstag an war jedes Tier von dieser Veränderung betroffen. Bei 5 von diesen Tieren entwickelten sich stärkere Gallengangsregenerate. Sie fanden sich wie oben erwähnt, immer nur allein an ein bis zwei Stellen jedes Präparates und bestanden aus sehr dichten, solid gebauten Schläuchen aus typischen Gallengangsepithelien. Das umgebende Stroma der Glisson'schen Felder erschien insgesamt stark verbreitert, zeigte aber keine besondere Faserdichte.

c.) Versuchsgruppe mit Thioazetamid(TAA)-Belastung (Kontrollen)

Die 8 überlebenden Tiere dieser Gruppe wurden vier Tage nach beendeter TAA-Zufuhr zum Versuchsende getötet. Sie zeigten durchwegs den Befund einer unterschiedlich schweren perilobulären Fibrose, einen gewissen Läppchenumbau und manchmal ausgesprochen grobknotige Pseudolobuli. Der ausgesprochene Befund einer zirrroseähnlichen Narbenleber wurde allerdings nur bei 6 der 18 Tiere gefunden. Die Regeneration von Leberzellen war deutlich. Dagegen zeigte sich nur eine sehr geringe Regenerationsneigung der Gallengänge. Nur 3 der gefundenen zirrroseähnlichen Narbenlebern zeigten die Bildung von Gallengangssprossen; meist handelte es sich um kurze, solide Epithelstränge. Nur in einem dieser 3 Fälle entwickelte sich an einer Stelle ein kleines, knotiges Gallengangsregenerat mit etwas erweiterten, drüsenartigen Schläuchen. Dieser Befund könnte als ein kleines, beginnendes Gallengangsadenom gedeutet werden, wie sie in früheren Untersuchungen von A. Georgii, H. Mehnert, R. Prosigel, G. Stock und H. Kastein u. a. gefunden wurden (24, 38, 49). Auch in diesem Falle handelte es sich um vereinzelte Regenerate in Schnittpräparaten, ähnlich wie es auch für die Gruppe DBI/TAA festgestellt wurde.

Der Fettgehalt der Leberzellen ist auch in dieser Versuchsgruppe nicht auffallend. Vielfach waren die Parenchymzellen völlig fettfrei. Bei wenigen Tieren fand sich eine feintropfige Leberzellverfettung ohne Bevorzugung einer bestimmten Lokalisation.

Dagegen ließ sich durch die Best'sche Carminfärbung reichlich Glykogen in den Leberzellen nachweisen. Auch Fälle mit schwerem zirrhatischen Parenchyumbau hatten einen kräftigeren Glykogengehalt, der in tiefroten Schollen im Cytoplasma besonders der anzino-zentralen Leberzellen gefunden wurde. Ausnehmend glykogenreich waren die großen, regenerierten Pseudolobuli.

Bei der reinen Toxitätsprüfung einer langfristigen Einwirkung des DBI auf die Leber gesunder Versuchstiere ergaben ^{sich} demnach am Kollektiv von 18 anatomisch ausgewerteten Tieren keine bemerkenswerten Veränderungen. Die gefundenen Parenchymzellverfettungen sind durchaus im Rahmen des Lipoidgehaltes, den wir bei unbehandelten Kontrollen beobachten. Den schwankende Glykogengehalt der Leberzellen möchten wir als Ausdruck unterschiedlicher, individueller Stoffwechsellagen der Versuchstiere deuten. Einen negativen Ausfall der Glykogenreaktion in Abhängigkeit von der Untersuchungsmethode nehmen wir nicht an, weil die entnommenen Leberstückchen gleichartig, im selben Arbeitsgang, also mit denselben Farblösungen behandelt worden sind. Aus Kontrolluntersuchungen über den Glykogengehalt von einheitlich ernährten Tieren ist uns der schwankende Glykogengehalt bei gesunden Tieren bekannt.

Diesen Befunden über den Fett- und Glykogengehalt von Leberparenchymzellen bei der DBI-Belastung gesunder Ratten entsprechen die Ergebnisse bei den anderen beiden Versuchsgruppen, in denen die Leber durch TAA belastet wurde sehr weitgehend. Es lässt sich bezüglich der Fett- und Glykogeneinlagerungen zwischen allen 3 Versuchsgruppen kein entscheidender Unterschied finden.

Zu einem wesentlich anderen Ergebnis führt die durch die TAA-Zufuhr bedingte schwere Leberschädigung. Die akuten Veränderungen laufen vorwiegend in Form einer Entzündung zwischen den Leberlobuli ab; die Parenchymzellen beteiligen sich durch Kernveränderungen, wie Schwellung, Pyknose, Riesenkerne und Auftreten von doppelkernigen Leberzellen: Veränderungen, die be-

reits von mehreren Autoren beschrieben worden sind (22, 28. 32,47,49,51).

Die Folge, der zwischen den Lobuliß ablaufenden Entzündung und der damit zusammenhängenden peripheren Zellnekrosen ist eine bindegewebige Vernarbung mit leichtem Umbau der Leberläppchen. Dabei fehlen in diesen Versuchsreihen die Regenerationen von Gallengängen weitgehend. Wir möchten deshalb die Befunde nicht als gewöhnliche Leberzirrhose, sondern mit KALK als eine zirrhoseähnliche Narbenleber bezeichnen.

Für unsere vorliegenden Untersuchungen ergibt sich nun ein wesentlicher Unterschied zwischen den beiden Versuchsgruppen mit der TAA-Belastung. Während in der Gruppe mit gleichzeitiger DBI-Belastung 13 Fälle von zirrhoseähnlicher Narbenleber beobachtet wurden, waren es bei alleiniger TAA-Zufuhr nur 6 Fälle. Ähnlich verhält es sich mit den beschriebenen Gallengangsregeneraten; sie fanden sich bei gleichzeitiger DBI-Belastung auch etwa doppelt so häufig (5:3 Fälle). Wie bereits oben erwähnt, war der Glykogen- und Fettgehalt dieser Leberzirrhosen kaum von der zu erwartenden Norm zu unterscheiden. Die Glykogeneinlagerungen waren bei beiden Gruppen sogar auffallend kräftig innerhalb der Pseudolobuli der Zirrhosen.

Der besondere Unterschied im Verhalten der gleichzeitig mit DBI belasteten Versuchstiere zur alleinigen TAA-Schädigung liegt also darin, daß bei den erstgenannten die zirrhoseartige Narbenleber und damit zusammenhängende Gallengangsregenerate etwa doppelt so häufig als bei den TAA-Kontroll-Tieren beobachtet wurden.

IV. Diskussion der Ergebnisse

Bei unserer Prüfungsanordnung sollte eine eventuelle schädigende Wirkung des Phenyläthylbiguanid (DBI) auf Rattenlebern festgestellt werden. Um diese zur Frage stehende toxische Wirkung deutlich werden zu lassen, wurde bei einem Teil der Versuchstiere die Leber durch das spezifische Lebergift Thioazetamid vor - geschädigt.

Bei dieser Aufgabenstellung sind die verschiedenen, hierbei angewandten Methoden von unterschiedlicher Bedeutung: bei der Auswertung und beim Vergleich der experimentellen Ergebnisse steht die histologische Untersuchung als die wertvollste Prüfung an der Spitze. Die pathologisch-anatomischen Untersuchungen stellen den objektiven Gradmesser für den Wert aller übrigen Untersuchungen dar. Die Prüfung der Mortalitätsverhältnisse und der statistisch korrigierten Gewichtsveränderungen der Tiere sind für die Beurteilung bereits von geringerem Wert. Bei diesen letzten Prüfungen sind nämlich die Zufälligkeiten und natürlichen Schwankungen im Verhalten jedes einzelnen Tieres ausgeprägter und störender als bei den eindeutig sichtbaren Veränderungen am geschädigten Organ. Die elektrophoretische Auswertung der Serumweißkörper liegt bedeutungsmäßig wegen der oben erwähnten Streuung und der besonders bei der Ratte nicht sehr hoch zu veranschlagenden Spezifität der Methode, an letzter Stelle.

Beim Vergleich aller vier Untersuchungsmethoden zeigt sich, daß bei der Überlebenszeit und dem Gewichtsverlauf jener Unterschied im Verhalten der einzelnen Versuchsgruppen sich nicht so deutlich herauschälte, wie es nach der histologischen Beurteilung zu erwarten gewesen wäre. Dennoch ergeben sich wesentliche Gemeinsamkeiten zusammen mit der Histologie:

Die Gruppe DT, d.h. die mit DBI u. TAA belasteten Tiere, schneidet beim gesamten Beobachtungsmaterial eindeutig am ungünstigsten ab: histologisch lassen sich doppelt so viel Leberzirrhosen und Gallengangsadenome als bei der mit TAA allein behandelten Tiergruppe feststellen. Aus der Gewichtskurve läßt sich ersehen, daß die kombiniert behandelte Gruppe zu Anfang und am Ende des Versuches stärkere Gewichtsverluste zu verzeichnen hat als beide Kontrollgruppen. Lediglich im mittleren Drittel der Versuchszeit liegen die korrigierten Mittelwerte der DT-Gruppe gering über der TAA-Gruppe (T-Gruppe). Wenngleich die Mortalitätskurven (s. Abb. 2) der T- und DT-Gruppe annähernd parallel verlaufen, ergibt sich auch hier eine geringgradig hö-

here prozentuale Sterblichkeit der Tiere zu Beginn und Ende des Versuches in Übereinstimmung mit dem Gewichtsverlauf. Auch gemäß den Befunden der elektrophoretischen Auswertung der Serumweißkörper liegt die DT-Gruppe mit einer Albuminabnahme von 21,5 % bis zu Versuchsende weitaus an der Spitze (s.S.12).

Im Gegensatz dazu weisen die Lebern der mit DBI behandelten Tiere keine von der Norm abweichenden Veränderungen auf. Bemerkenswerterweise fanden sich die Lebern der über lange Zeit mit Biguaniden behandelten Tiere als durchaus glykogenreich, was in Übereinstimmung mit den Untersuchungen von Beringer und Ungar (6,63) und anderen Autoren(40,23) und in einem gewissen Gegensatz zu den Beobachtungen von Williams und Creutzfeld u. a. (67,12,13,60,56) steht. Es ist allerdings zu beachten, daß unsere Methodik von der der letztgenannten Autoren (sofern sich unterscheidet, als wir die Tiere über einen längeren Zeitraum zwar mit hohen, aber bewußt nicht mit überhöhten (13), d.h. zum Schock führenden Dosen, behandelten.

Gewichtsmäßig zeigt die D-Gruppe im Mittel einen Anstieg von 215 g auf 227 g pro Tier, was einem Mehrgewicht von 18 g gegenüber der T- und 20 g gegenüber der DT-Gruppe entspricht. Im gleichen Sinne liegt eine Sterblichkeit von nur ca. 20 % bei der D-Gruppe gegenüber einer solchen von etwa 60 % bei den beiden anderen Gruppen. Lediglich bei der elektrophoretischen Untersuchung, deren geringerer Wert im Vergleich zu den übrigen Prüfungsmethoden schon erwähnt wurde, folgt die mit DBI belastete Tiergruppe in der prozentualen Abnahme an 2. Stelle nach der DT-Gruppe, aber noch vor der T-Gruppe (s.S.12).

Zusammengefaßt läßt sich unseren tierexperimentellen Untersuchungen entnehmen, daß die Verabreichung von DBI über einen längeren Zeitraum bei Ratten keine Hinweise für Leberschäden ergibt. Hingegen bewirkt die Applikation gleicher Mengen DBI an Ratten, deren Leber mit TAA vorgeschädigt wurde, eine deutliche Verstärkung des Leberschadens im Vergleich zu Tieren, die nur TAA, jedoch kein DBI erhielten.

An Hand von zwei klinischen Beispielen haben wir außerdem noch einmal demonstrieren wollen, daß die Verabreichung von DBI an leber-

gesunde Diabetiker über einen Zeitraum bis zu 2 Jahren, ebenfalls keine Hinweise für eine Lebertoxizität ergeben hat. Zu gleichen Resultaten bei größerem Patientenmaterial sind bisher alle Untersucher gekommen, die DBI über Jahre an Zuckerkrankte verabreichten (7,34,35,36,37,41,42,43,44,46,50,53).

Wenn tierexperimentelle Untersuchungen überhaupt einen Schluss für die klinische Brauchbarkeit eines Medikaments erlauben, so darf nach unseren Untersuchungen gesagt werden, daß - in Übereinstimmung mit den bisherigen Ergebnissen - gegen die Verabreichung von DBI an leber-gesunde Zuckerkrankte keine Einwendungen bestehen. Auf Grund unserer Untersuchungen an lebergeschädigten Tieren möchten wir jedoch davor warnen, dieses Biguanidderivat an Patienten zu verabreichen, deren Diabetes mellitus durch ein Leberleiden kompliziert ist.

V. Zusammenfassung

Während der Dauer von 5 Monaten sollte an 60 Ratten, die in drei Gruppen aufgeteilt und zum Teil mit Thioacetamid (TAA) lebergeschädigt wurden, die Einwirkung des Phenyl-äthylbiguanid (DBI) auf die Leber geprüft werden. Die eiweißarm ernährten Tiere erhielten jeweils in einer Gruppe zu 20 Tieren entweder DBI oder TAA allein, eine letzte Gruppe DBI u. TAA zusammen. Die Substanzen wurden in wässriger Lösung per Schlundsonde zugeführt. Nach Tötung aller noch überlebenden Tiere am Versuchsende wurden die Überlebenszeit, die statistisch korrigierten Körpergewichte, das Verhalten der Serumweißkörper durch die Elektrophorese und die morphologischen Veränderungen an der Leber bei allen drei Gruppen miteinander verglichen.

Dabei zeigte die kombiniert mit DBI u. TAA behandelte Tiergruppe gegenüber den beiden anderen Kontrollgruppen ein

doppelt so häufiges Auftreten von Zirrhosen und Gallengangsadenomen. Ebenso, im gleichen Verhältnis, sank der Albumin-Globulinquotient stärker bei der kombiniert behandelten Gruppe. Hinsichtlich der Überlebenszeit und des Körpergewichts verhielten sich die TAA-Gruppe und die DBI/TAA Gruppe annähernd gleich, wobei auch hier die kombiniert behandelten Tiere eher etwas schlechter abschnitten.

Die Verabreichung von DBI allein in der bis zu 16-fach höheren Dosis, als der therapeutischen Dosierung entspricht, ließ sowohl histologisch als auch im Gewichtsverlauf und bei der Überlebenszeit wesentlich günstigere Ergebnisse im Vergleich zu den anderen Tiergruppen erkennen. Histologisch waren in diesem Fall keinerlei Veränderungen an der Leber nachzuweisen. Die größere Überlebensrate und das höhere Körpergewicht zu Ende des Versuches bei der DBI-Gruppe sprechen im gleichen Sinne.

Unter Berücksichtigung klinischer Beobachtungen bei lebergesunden Patienten, die mehr als zwei Jahre mit DBI behandelt wurden, kann zusammen mit den tierexperimentellen Befunden gesagt werden, daß DBI, selbst in großen Dosen während einer längeren Zeitspanne verabreicht, keine toxischen Veränderungen an der Leber hervorruft. Bei schweren Leberschädigungen jedoch könnte nach unseren Befunden diese Medikation eine zusätzliche Belastung bedeuten.

Tab. I

Zusammenstellung der einzelnen Dosierungen für DBI und TAA
in den jeweiligen Monaten:

Zeichenerklärung: DBI=Phenyläthylbiguanid; TAA=Thioazetamid;
ED=Einzeldosis; KG=Körpergewicht.

Versuchsmonat:	Febr.	März	April	Mai	Juni
Zahl der ED pro Monat:	4	13	11	12	14
Zahl der ED mal DBI-Menge in mg	4x2,5	4x2,5 9x5,0	8x5,0 3x7,5	12x7,5	1x7,5 13x5,0
Zahl der ED mal TAA-Menge in mg	4x12	4x12 9x12	8x12 3x20	12x20	1x20 13x40
Gesamtdosis DBI in mg pro Monat	10	55	62,5	90	202,5
Gesamtdosis TAA in mg pro Monat	48	120	156	240	540
Gesamtdosis DBI in mg/kg KG pro Monat	47,2	259,6	295	424,8 Summe:	954,5 1981,1
Gesamtdosis TAA in mg/kg KG pro Monat	266,4	735,8	735,8	1131,6 Summe:	2546,2 5375,6

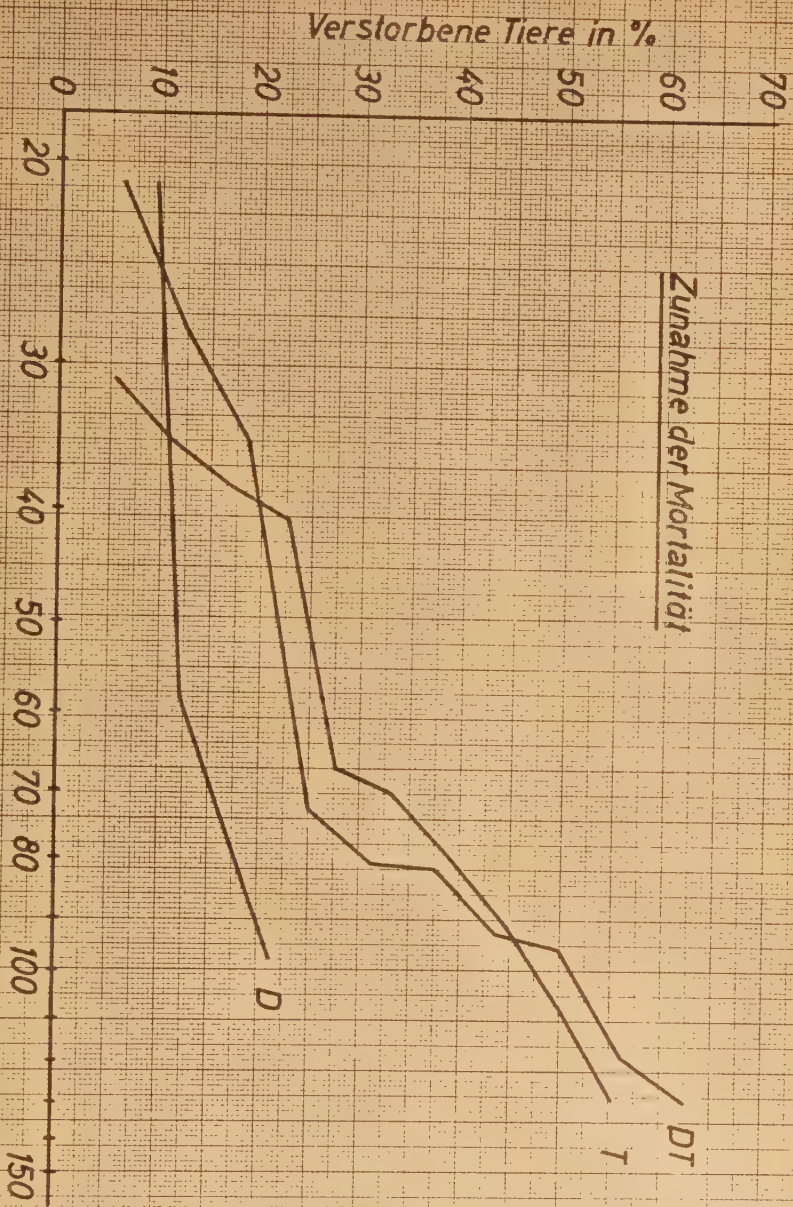


Abb. 2

Tage nach Versuchsbeginn

Miller's Körpergewicht

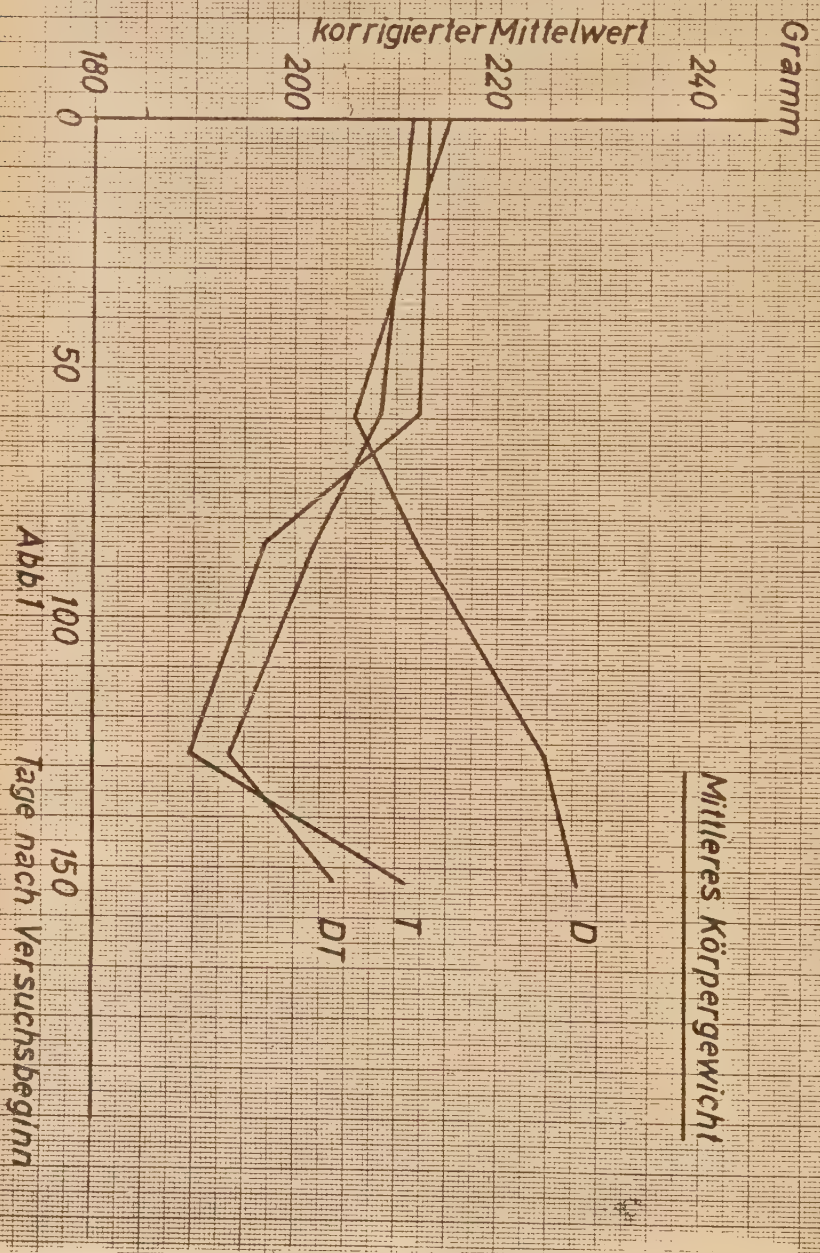


Abb. 1

VII. Literaturverzeichnis

1. Achelis, J.D.; K.Hardebeck:
Dtsch.med.Wschr. 80(1955), 1452
2. Adler, A.;
Klin.Wschr. 6 (1927), 493
3. Arlington, F.:
U.S.Vit.Corp.Laboratories New York, 17 NY
pers.Mitt.
4. Bänder, A. et al.: Dtsch.med.Wschr. 81 (1956), 823, 887
5. Bänder, A.:
Verh.Dtsch.Ges.Pharmakol.(1955)
6. Beringer, A.:
Wien.med.Wschr. 108 (1958), 880
7. Beringer, A.; H.Thaler:
Medizinische 1 (1959), 44
8. Bertram, F.; E.Bendfeld; H.Otto:
Dtsch.med.Wschr. 80 (1955), 1455
9. Bertram, F.:
Dtsch.med.Wschr. 53 (1927), 2115
10. Bertram, F.:
Dtsch.Arch.klin.Med. 158 (1927), 76
11. Bodo, R.; H.P.Marks: J.Physiol. 65 (1928), 83
12. Creutzfeld, W.:
Diabetes 6 (1957), 135
13. Creutzfeld, W.; A.Moench:
Endocrinologie 36 (1958), 167
14. Creutzfeld, W.:
Verh.Dtsch.Gesellsch.Verdaauungskrh. (1955)
15. Dittmar, F.:
Inaug.Diss.München (1960), im Druck
16. Duncan, L.:
zitiert nach Goldner (25)
17. Eismayer, G.:
Klin.Wschr. 20 (1932), 860
18. Frank, E.:
Med.Klinik 15 (1928), 16
19. Frank, E.; M.Noethman; A.Wagner:
Klin.Wschr. 5 (1926), 2100
20. Frank, E.; M.Noethman; A.Wagner:
Dtsch.med.Wschr. 52(1926), 2067, 2107
21. Franke, H.; J.Fuchs: Dtsch.med.Wschr. 80 (1955), 1449

22. Fithug, O.G.; A.A. Nelson:
Science (1948), 626
23. Georgii, A.; H. Mehnert:
unveröffentlicht
24. Georgii, A.; R. Prosigel; H. Mehnert; H. Kastein; G. Stock:
Ztschr. ges. exp. Med. 131 (1959), 181
25. Goldner, M.G.: Metabolism 8 (1959), 557
26. Grassmann, W.; K. Hannig:
Z. Physiol. Chem. 290 (1952), 1
27. Grassmann, W.; K. Hannig:
Naturwissenschaften 37 (1950), 496
28. Gupta, D.N.: Nature (London) (1955), 4449
29. Hesse, E.; G. Taubmann:
Arch. exp. Path. u. Pharmacol. 142 (1929), 290
30. Hornung, S.: Klin. Wschr. 7 (1928), 69
31. Karr, W.G.; W.P. Belk; O.H. Petty:
J. Pharmacol. Exp. Therap. 43 (1929), 295
32. Kastein, H.: Inaug. Diss. München (1959)
33. Krall, L.P.; R. Camerini-Dávalos:
Proc. Soc. Exp. Biol. Med. 95 (1957), 345
34. Krall, L.P.; R.F. Bradley:
Ann. Int. Med. 50 (1959), 586
35. Krall, L.P.; P. White; R.F. Bradley:
Diabetes 7 (1958), 468
36. Krall, L.P.: Votr. Amer. Coll. of Physicians Atl. City N.Y.
2.5.1958
37. Lambert, Th.L.: Votr. DBI-Symposion, Houston-Texas 5/6.2.1959
38. Lopez, M.J.: Path. Bact. 69 (1955), 243
39. Mehnert, H.; R. Camerini-Dávalos; A. Marble:
J. Am. Med. Ass. 167 (1958), 818
40. Mehnert, H.; A. Georgii:
Verh. dtsch. Ges. Inn. Med. (1959), 65, Kongr. 723
41. Mehnert, H.; L. Krall:
Dtsch. med. Wschr. 1960 (im Druck)

42. Miller, E.C. : Vortr. DBI-Symposion Houston-Texas 5./6.2.59
43. Pearlman, W. : Vortr. DBI-Symposion Houston-Texas 5./6.2.59
44. Pomeranze, J. : J. Endocrin. 17 (1957), 1011
45. Pomeranze, J.; H. Fujii; G.T. Mouratoff:
Proc. Soc. Exp. Biol. Med. 95 (1957), 193
46. Pomeranze, J.; G.T. Mouratoff; R.J. Gadeck; E.J. King:
J.A.M.A. 171 (1959) 92/252
47. Rather, L.J. : Bull. Johns. Hopk. Hosp. 88 (1951) , 35
48. Rathery, F.; J. Millot; C.R. Kourilsky:
Soc. Biol. 97 (1927), 523
49. Schätz, G. Vortr. Berl. Ärztl. Verein Jan. 1958
50. Schilling, I. : Ztschr. ges. Inn. Med. 16 (1959), 755
51. Schwietzer, H. : Vortr. Norddeutsch. Internistenkongr. Jan. 1957
52. Simola, P.E. : J. Phys. Chem. 168 (1927) , 274
53. Skillman, Th.K.; F.A. Kruger; G.J. Hamwi:
Diabetes 8 (1959), 274
54. Slotta, K.H.; R. Tschesche:
Ber. dtsch. chem. Ges. 62 B (1929), 1398
55. Staub, H. : Ztschr. klin. Med. 107 (1928), 607
56. Steiner, D.F.; R.H. Williams:
Clin. Research 6 (1958), 55
57. Stock, H. : Inaug. Diss. München (1959)
58. Stötter, G. : Verh. dtsch. Verdauungskrrh. (1955)
59. Szczeklik, E. Wien. klin. Wschr. 40 (1927), 1075
60. Tyberghein, J.M.; R.H. Williams:
Proc. Soc. Exp. Biol. Med. 96 (1957), 29
61. Umber, F. : Dtsch. med. Wschr. 27 (1927)
62. Ungar, G. : Diabetes 7 (1958), 91 group discussion
63. Ungar, G.; L. Freedman; S.L. Shapiro:
Proc. Soc. Exp. Biol. Med. 95 (1957), 345
64. Watanabe, C.K. : J. Biol. Chem. 33 (1918), 253

65. Wiechmann, E.: Die Zuckerkrankht. (J.F. Lehmann, Mä. 1953), 247
66. Williams, R.H.; D.C. Tanner; W.D. Odell:
Diabetes 7 (1958), 87
67. Williams, R.H.; J.M. Tyberghein; O.M. Hyde; R.L. Nielsen:
Metabolism 6 (1957), 311
68. Williams, R.H.: Diabetes 7 (1958), 91 group discussion

Herrn Professor Dr. W. Seitz bin ich für die
Überlassung des Themas zu Dank verpflichtet.

Herrn Dr. H. Mehnert und Herrn Dr. A. Georgi
(Patholog. Institut der Universität München)
danke ich besonders für jederzeit ge-
währten Rat und Unterstützung der Arbeit.

LEBENS LAUF

Ich, Helga Boss, wurde am 24. Dezember 1933 als Tochter des Überseekauffmanns Friedrich H. Boss und seiner 1958 verstorbenen Ehefrau Ruth Boss Dr. med., geb. Bayer in Peking (China) geboren.

Nach unserer Umsiedlung 1936 von China nach Deutschland besuchte ich bis zu meinem 7. Lebensjahr in Mittenwald die Volksschule, die ich 1944 in Starnberg beendete. Anschließend trat ich in die Oberrealschule zu Starnberg ein und bestand in dieser Anstalt 1952 das Abitur. Daraufhin besuchte ich eine Handelsschule in München, ließ mich bei Prof. F. Ehmcke in Widdersberg graphisch ausbilden und bestand die Aufnahmeprüfung für Architektur auf der Technischen Hochschule in München. 1953 jedoch erfolgte meine Immatrikulation an der medizinischen Fakultät der Ludwig-Maximilians-Universität München. Mit Ausnahme eines Semesters in Innsbruck (Sommer 1957) verbrachte ich meine gesamte Studienzeit in München. Hier legte ich 1956 die medizinische Vorprüfung und 1959 das medizinische Staatsexamen ab.

Seit Oktober 1959 bin ich als Medizinalassistentin an der Medizinischen Poliklinik der Universität München tätig.

